动 物 学 研 究 2003, Oct. 24 (5): 331~336 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

基于线粒体基因组探讨鲸偶蹄类七种动物的系统发育关系

施燕峰[1], 单祥年[1,2,3], 李 健[1], 张海军[1], 郑爱玲[1]
(1. 东南大学 医学院遗传中心, 江苏 南京 210009; 2. 南京师范大学 生命科学学院, 江苏 南京 210097)

摘要: 利用作者已测定的赤麂 (*Muntiacus muntjak*) 线粒体全基因组序列和从 GenBank 检索到的鲸偶蹄类有代表性的长须鲸、河马、奶牛、绵羊、猪、羊驼 6 种动物的线粒体全基因组序列, 按顺序分别连接各自的 13 个蛋白编码基因、13 个氨基酸序列、2 个 rRNA 基因和 22 个 tRNA 基因成一个氨基酸序列或核苷酸序列, 用 DNASTAR 软件统计碱基长度和组成; 分析奶牛、绵羊和赤麂两两之间蛋白编码基因的序列差异; 用 MEGA 计算 7 种动物 12*S* 和 16*S* rRNA 基因的遗传距离; 基于连接在一起的 13 个蛋白编码基因的氨基酸序列, 用 NJ 法构建系统关系树。结果显示: ①偶蹄目反刍亚目牛科的绵羊和同亚目鹿科的赤麂先聚为一亚支, 然后与该亚目牛科的奶牛并为一支; 猪形亚目猪科的猪和胼足亚目驼科的羊驼并为一支; 鲸目须鲸亚目须鲸科的长须鲸和偶蹄目猪形亚目河马科的河马并为一支。②赤麂与绵羊的亲缘关系更近。③推测赤麂与绵羊和奶牛的分歧时间分别约在 14.7 和 16.0 百万年前。

关键词: 赤麂; 鲸偶蹄类; 线粒体; 基因组; 系统发育
中图分类号: Q959.8 **文献标识码**: A **文章编号**: 0254-5853(2003)05-0331-06

Phylogenetic Relationships of Seven Cetartiodactyla Species Inferred from Mitochondrial Genome

SHI Yan-feng[1], SHAN Xiang-nian[1,2,3], LI Jian[1], ZHANG Hai-jun[1], ZHENG Ai-ling[1]
(1. *Genetics Research Center, Medical School, Southeast University, Nanjing* 210009, *China*;
2. *College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing* 210097, *China*)

Abstract: Using the mitochondrial genomes of the muntjak (Cervidae: Muntiacus) sequenced by our lab. and 6 other species of Cetartiodactyla obtained from the GenBank, we calculated the sequence lengths and base compositions of their individual concatenated sequences of 13 amino acid sequences, 13 protein-coding genes, 2 rRNA genes, 22 tRNA genes and control region. Sequence differences of protein-coding genes between cow/sheep, sheep/muntjak and muntjak/cow were analysed and genetic distances of the concatenated 12*S* rRNA and 16*S* rRNA genes among the 7 Cetartiodactyla species were calculated with MEGA. Based on the contatenated sequences of 13 inferred amino acid sequences of protein-coding genes, we constructed the phylogenetic tree with Neighbor-joining method, and discussed their phylogenetic relationships. Our results show: ①those species are divided into 3 clades which are a muntjak-sheep-cow clade, a pig-alpaca clade and a hippopotamus-whale clade; sheep and muntjak are first grouped into one branch and then cow is added to them; ②there is a closer relationship between muntjak and sheep than that betweeen muntjak and cow; ③the divergence between the muntjak and sheep lineages occurred at 14.7 million years ago and the one between the muntjak and cow lineages did at 16.0 million years ago.

Key words: Muntjak; Cetartiodactyla; Mitochondrion; Genome; Phylogeny

线粒体基因组 (mtDNA) 是核外遗传物质, 与核 DNA 相比, 具有分子结构简单、以母性遗传、碱基变异度大、进化速度快等特点, 从而成为研究分子进化的重要手段 (Stoneking & Soodyall, 1996;

收稿日期: 2003-05-08; 接受日期: 2003-06-25
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (3997011)
3. 通讯作者 (Corresponding auther), E-mail: njsxn@yahoo.com.cn, shiyanfeng2003@yahoo.com.cn

Vagilan et al, 1991)。同时，随着分子生物学和生物信息学的发展，大片段系列的测序和序列分析已比较容易实现，因而利用 mtDNA 研究进化关系的方法受到越来越多研究者的青睐。作为分子标记，研究动物进化的 mtDNA 常有控制区（D-loop 区）、12*S* rDNA、16*S* rDNA、细胞色素 *b*（Cyt *b*）和 ND4（NADH 脱氢酶亚基 4）（Niu et al，2001），但单个序列提供的信息量太少，涉及的进化信息有限。因此，近年来国际上常采用把 mtDNA 中 13 个预测的蛋白编码基因的氨基酸序列按顺序连接起来构建进化树，以分析种间种内的进化关系（Kim et al，1998；Yamauchi et al，2002；Elmerot et al，2002）。

鲸类和偶蹄类在传统上被认为是两个特征明确的支系，但分子系统学的研究表明现生鲸类与偶蹄类中的河马最接近，从而打破了鲸目和偶蹄目各自成一单系的传统看法。此外，从最新发现的古老鲸类化石也表明，原始鲸类的肢骨上具有明显的偶蹄类特征（Gingerich et al，2001）。上述两方面都支持鲸目与偶蹄目亲近关系的学说，由此一个新的哺乳动物类群——鲸偶蹄类（Cetartiodactyla）得以成立。但对于鲸类是否与传统偶蹄类中的河马最为接近依然有争议（Maden et al，2001；Murphy et al，2001a，b；Meng，2002）。

赤麂（*Muntiacus muntjak*）是鹿科（Cervidae）麂亚科（Muntiacinae）体型最大的一种动物，主要分布在尼泊尔、锡金、印度东北部、缅甸西部，我国云南地区及华南、东南和西南的部分地区（Ma et al，1988a）。其染色体是目前已知的哺乳动物中最少的（$2n=6$♀，7♂）（Shi，1976），自 70 年代以来国内众多实验室用赤麂细胞株研究细胞周期、染色体进化及遗传毒理，是一种公认的模式动物（Ma & Shi，1988b），但基于连接的蛋白编码基因氨基酸序列的分子进化关系尚无人涉及。本文利用本实验室已测定的赤麂线粒体全基因组序列（待发表）和检索到的鲸偶蹄类 6 种动物的线粒体全基因组序列，计算其序列组成差异和遗传距离，构建分子进化树，以期从分子水平确立赤麂在鲸偶蹄类中的进化地位，同时进一步确定鲸类中长须鲸与传统偶蹄类中的河马的关系，为鲸偶蹄类动物遗传多样性提供科学依据。

1 材料和方法

在鲸偶蹄目内已测定线粒体全基因组序列的 11 种动物中，选取具有代表性的长须鲸、河马、奶牛、绵羊、猪、羊驼和赤麂（资料来自本实验室）7 种动物作为分析源，其分类地位及登录号见表 1。

按照基因或氨基酸序列在线粒体上的顺序，将 7 种动物 13 个蛋白编码基因、13 个氨基酸序列、2 个 rRNA 基因和 22 个 tRNA 基因，各自分别连接成一个氨基酸序列或核苷酸序列，用DNASTAR软件

表 1 本研究选用的鲸偶蹄类 7 种动物的分类地位及登录号

Table 1 Taxonomic position and accession number of 7 Cetartiodactyla species used in the present study

目 Order	亚目 Suborder	科 Family	属 Genus	种 Species	俗称 Commom name	登录号 Accession number	参考文献 Reference
鲸目 Cetacea	须鲸亚目 Mysticeti	须鲸科 Balaenopteridae	须鲸属 *Balaenoptera*	B. *physalus*	长须鲸 Finback whale	NC_001321	Arnason et al, 1991
偶蹄目 Artiodactyla	猪形亚目 Suiformes	猪科 Suidae	猪属 *Sus*	*S. scrofa*	猪 Pig	NC_000845	Lin et al, 1999
		河马科 Hippopotamidae	河马属 *Hippopotamus*	*H. amphibius*	河马 Hippopotamus	NC_000889	Ursing & Arnason, 1998
	胼足亚目 Tylopoda	驼科 Camelidae	骆羊属 *Lama*	*L. pacos*	羊驼 Alpaca	NC_002504	Ursing et al, 2000
	反刍亚目 Ruminantia	鹿科 Cervidae	麂属 *Muntiacus*	*M. muntjak*	赤麂 Muntjak	NC_004563	本实验室
		牛科 Bovidae	牛属 *Bos*	*B. taurus*	奶牛 Cow	NC_001567	Hauswirth & Laipis, 1982; Anderson et al, 1982
			羊属 *Ovis*	*O. aries*	绵羊 Sheep	NC_001941	Hiendleder et al, 1998

(DNASTAR, Inc.) 统计碱基长度和组成差异；用 MEGA2.0 (Kumar et al, 2001) 软件计算奶牛、绵羊和赤麂基于连接的 12*S* rRNA 和 16*S* rRNA 基因的遗传距离。用 Clustal X 1.8 (Thompson et al, 1997) 对连接在一起的 13 个蛋白编码基因氨基酸序列排序，通过 MEGA 软件邻近距离法 (Neighbor-joining, NJ) (Saitou & Nei, 1987) 构建分子进化树，进化树各分支置信度由 Bootstrap 法检验 (Felsenstein, 1985)，共 2 000 次循环。其他未提及的程序设置为系统默认值。

由赤麂、奶牛和绵羊的 12*S* rRNA 基因和 16*S* rRNA 基因的遗传距离，根据 $T = (T_{12S} + T_{16S}/1.4)/2$、$T_{12S} = (GD_{12S}/0.14) \times 100$ 和 $T_{16S} = (GD_{16S}/0.14) \times 100$ 计算两两之间的分歧时间（单位为百万年），其中 T 为加权分歧时间；T_{12S} 为基于 12*S* rRNA 的分歧时间；T_{16S} 为基于 16*S* rRNA 的分歧时间；GD_{12S} 为 12*S* rRNA 的遗传距离；GD_{16S} 为 16*S* rRNA 的遗传距离。

2 结果与分析

2.1 鲸偶蹄类 7 种动物 mtDNA 序列长度和组成

这 7 种动物的蛋白编码基因核苷酸序列、氨基酸序列、tRNA 基因和 rRNA 基因的长度和组成都比较接近，长度最接近的是连接在一起的 13 个氨基酸序列 (3 782 ~ 3 794 aa)，长度差异最大的是控制区 (929 ~ 1 226 bp)，有较多的插入和缺失。在鲸偶蹄类 7 种动物中，赤麂 mtDNA 全序列相对较短 (16 354 bp)；全基因组、各种基因及控制区中的 A + T 含量相对较高（表 2）。

2.2 奶牛、绵羊、赤麂蛋白编码基因序列分析

表 3 列出反刍亚目的奶牛、绵羊与赤麂两两之间蛋白编码基因和氨基酸序列的差异。赤麂和绵羊之间核苷酸差异从 13.8% (*ND6*) 到 19.9% (*ND4L*)，平均值为 18.0%；氨基酸差异从 0.6% (*COX* Ⅰ) 到 16.4% (*ATPase*8)，平均值为 6.8%。赤麂和奶牛之间的核苷酸差异从 15.4% (*ND6*) 到 24.6% (*ATPase*8)，平均值为 18.7%；氨基酸差异从 1.2% (*COX* Ⅰ) 到 16.4% (*ATPase*8)，平均值为 7.1%。奶牛和绵羊之间的核苷酸差异从 15.1% (*COX* Ⅰ) 到 20.1% (*ATPase*8)，平均值为 17.1%；氨基酸差异从 0.6% (*COX* Ⅰ) 到 11.2% (*ATPase*8)，平均值为 6.5%。就基因种类而言，*COX* Ⅰ、*COX* Ⅱ 和 *COX* Ⅲ 在奶牛、绵羊和赤麂两两之间的核苷酸和氨基酸差异均较小；而 *ATPase*8 和 *ATPase*6 的差异均较大。

就核苷酸和氨基酸差异的平均水平而言，奶牛/绵羊 < 绵羊/赤麂 < 赤麂/奶牛，赤麂和绵羊有更近的亲缘关系；氨基酸差异明显低于核苷酸差异。这是许多核苷酸突变中的同义突变不导致氨基酸变异的缘故。以变异最大的奶牛/赤麂的 *ATPase*8 为例：氨基酸突变共有 10 处，而核苷酸突变则有 41 处，其中有 21 处的突变没有产生氨基酸变异，为同义突变（排序图略）。

表 2 鲸偶蹄类 7 种动物 mtDNA 序列长度和组成

Table 2 Length and composition of mtDNA sequences of 7 Cetartiodactyla species

物种 Species	L 链 L strain		蛋白编码基因 Protein-coding gene		氨基酸序列 Amino acid sequence	tRNA 基因 tRNA gene		rRNA 基因 rRNA gene		控制区 Control regeion	
	长度 Length (bp)	A + T 含量 A + T (%)	长度 Length (bp)	A + T 含量 A + T (%)	长度 Length (aa)	长度 Length (bp)	A + T 含量 A + T (%)	长度 Length (bp)	A + T 含量 A + T (%)	长度 Length (bp)	A + T 含量 A + T (%)
长须鲸 Finback whale	16 398	59.41	11 405	58.83	3 790	1 527	63.20	2 250	59.57	929	60.82
猪 Pig	16 613	60.54	11 412	60.31	3 794	1 511	62.87	2 531	61.12	1 175	59.15
河马 Hippopotamus	16 407	57.44	11 378	56.66	3 782	1 510	59.54	2 533	59.77	960	58.44
羊驼 Alpaca	16 652	59.15	11 415	59.18	3 794	1 501	61.56	2 529	59.55	1 226	56.04
赤麂 Muntjak	16 354	62.15	11 406	61.93	3 791	1 517	63.88	2 523	62.86	912	60.64
奶牛 Cow	16 338	60.62	11 403	60.19	3 790	1 513	63.91	2 526	60.61	910	61.87
绵羊 Sheep	16 616	61.06	11 371	60.53	3 791	1 515	64.22	2 532	61.02	1 180	62.97

表 3 奶牛、绵羊、赤麂两两之间的线粒体蛋白编码基因的核苷酸序列差异和氨基酸序列差异[1]

Table 3 Difference of nucleotide sequences and amino acid sequences of the mtDNA protein-coding genes between cow/sheep, sheep/muntjak, and muntjak/cow[1]

基因 Gene	核苷酸序列差异 Nucleotide sequence difference			氨基酸序列差异 Amino acid sequence difference		
	奶牛/绵羊 Cow/Sheep	绵羊/赤麂 Sheep/Muntjak	赤麂/奶牛 Muntjak/Cow	奶牛/绵羊 Cow/Sheep	绵羊/赤麂 Sheep/Muntjak	赤麂/奶牛 Muntjak/Cow
ND1	0.169 (5)	0.185 (8)	0.182 (7)	0.065 (6/7)	0.038 (10)	0.068 (6)
ND2	0.168 (6/7)	0.173 (10)	0.176 (9)	0.084 (4)	0.090 (4)	0.094 (3)
COX Ⅰ	0.151 (13)	0.166 (11)	0.170 (12)	0.006 (13)	0.006 (11)	0.012 (13)
COX Ⅱ	0.162 (10)	0.183 (9)	0.172 (11)	0.027 (12)	0.031 (12)	0.013 (12)
ATPase8	0.204 (1)	0.188 (6)	0.246 (1)	0.112 (1)	0.164 (1)	0.164 (1)
ATPase6	0.168 (6/7)	0.196 (2)	0.196 (4)	0.069 (5)	0.064 (7)	0.073 (5)
COX Ⅲ	0.155 (12)	0.186 (7)	0.175 (10)	0.043 (11)	0.023 (12)	0.047 (11)
ND3	0.157 (11)	0.189 (5)	0.181 (8)	0.054 (10)	0.091 (3)	0.054 (10)
ND4L	0.166 (8)	0.199 (1)	0.197 (3)	0.063 (8/9)	0.052 (8/9)	0.063 (7/8)
ND4	0.182 (4)	0.193 (4)	0.188 (5)	0.063 (8/9)	0.052 (8/9)	0.063 (7/8)
ND5	0.185 (3)	0.195 (3)	0.203 (2)	0.101 (2)	0.130 (2)	0.136 (2)
ND6	0.163 (9)	0.138 (13)	0.154 (13)	0.065 (6/7)	0.065 (6)	0.059 (9)
Cyt *b*	0.195 (2)	0.151 (12)	0.186 (6)	0.091 (3)	0.074 (5)	0.077 (4)
Mean	0.171	0.180	0.187	0.065	0.068	0.071

[1] 括弧内数字按序列差异降序排列；数值越小，其基因越保守。

[1] Order of genes shown in parentheses is according to decreasing difference. The less the number is, the more conservative the gene is.

2.3 鲸偶蹄类 7 种动物线粒体 rRNA 基因的遗传距离和分歧时间

从表 4 中可以看出赤麂与绵羊的 12*S* rRNA 遗传距离最近（1.2%），与奶牛的 16*S* rRNA 遗传距离最近（3.9%），证实奶牛、绵羊和赤麂三者有较近的亲缘关系，但不能确定赤麂与奶牛、赤麂与绵羊哪两者之间的亲缘关系更近。长须鲸虽然属于鲸目，但从它与偶蹄目的 6 种动物的 rRNA 基因遗传距离上看，并没有太大的差异。从表中还可以看出 16*S* rRNA 的遗传距离要比 12*S* rRNA 的遗传距离总体上大 1.4 倍，表明 16*S* rRNA 基因进化速度要比 12*S* rRNA 基因快。

基于 12*S* rRNA 和 16*S* rRNA 的遗传距离，推算出赤麂和绵羊的分歧时间在 14.7 百万年前；赤麂和奶牛的分歧时间是 16.0 百万年前；奶牛和绵羊的分歧时间是 13.1 百万年前。

表 4 鲸偶蹄类 7 种动物线粒体 12*S*（左下角）和 16*S* rRNA 基因（右上角）的遗传距离

Table 4 Genetic distance of mtDNA 12*S* (below diagonal) and 16*S* (above diagonal) rRNA genes of 7 Cetariodactyla species

	长须鲸 Finback whale	猪 Pig	河马 Hippopotamus	羊驼 Alpaca	赤麂 Muntjak	奶牛 Cow	绵羊 Sheep
长须鲸 Finback whale		0.100	0.056	0.076	0.094	0.088	0.097
猪 Pig	0.048		0.098	0.090	0.085	0.081	0.083
河马 Hippopotamus	0.063	0.064		0.063	0.086	0.079	0.085
羊驼 Alpaca	0.068	0.075	0.067		0.084	0.085	0.087
赤麂 Muntjak	0.060	0.064	0.065	0.063		0.039	0.041
奶牛 Cow	0.055	0.057	0.064	0.063	0.017		0.033
绵羊 Sheep	0.059	0.064	0.059	0.053	0.012	0.013	

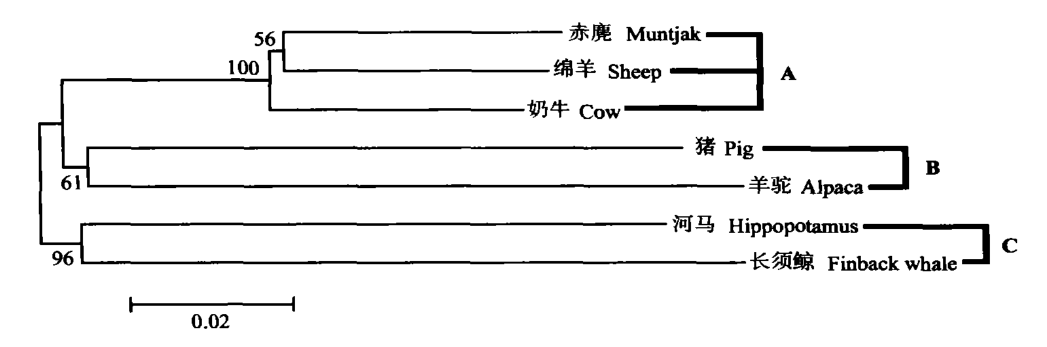


图 1 基于连接的 mtDNA 蛋白编码基因的氨基酸序列用 NJ 法构建的鲸偶蹄类 7 种动物的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of 7 Certartiodactyla species based on contatenated amino acid sequences of mtDNA protein-coding genes by NJ method

树枝上的数值为 Bootstrap 2 000 次的支持率。

Numbers at the branches indicate the bootstrap percentages of 2 000.

2.4 鲸偶蹄类 7 种动物的分子进化树

从 NJ 法构建的系统发育树可以看出，鲸偶蹄类 7 种动物分为 3 支（A、B 和 C）（图 1），偶蹄目反刍亚目牛科的绵羊和同亚目鹿科的赤麂先聚为一支（置信度为 56%），然后与该亚目牛科的奶牛并为一支（A，置信度为 100%）；偶蹄目猪形亚目猪科的猪和偶蹄目胼足亚目驼科的羊驼先并为一支（B，致信度为 61%），再与 A 并为一支；鲸目须鲸亚目须鲸科长须鲸和偶蹄目猪形亚目河马科河马并为一支（C，置信度为 96%）。

3 讨 论

在我们构建的分子进化树中，鲸目须鲸亚目须鲸科长须鲸和偶蹄目猪形亚目河马科河马并为一支，且置信度很高（96%），大于置信度阈值（70%）（Kimball et al，1999），但分歧时间较早。该结果与 Gatesy et al（1996）、Ursing & Arnason（1998）的结论一致。这种形态上有较大差异而分子进化水平却有较大关联的现象可以用平行进化学说来解释，或许长须鲸和河马的共同祖先生存在海洋中，以后河马的祖先开始在陆地上生存，而长须鲸的祖先则继续生存在海洋中，两者的生存环境发生了变化。为了适应环境，二者的形态和生活习性也由此发生变异，但其 mtDNA 基因的遗传距离还没有明显的分歧。

此外，由于赤麂和绵羊汇入一支的置信度较低（56%），我们又用 MEGA 软件的最小进化法（Minimum Evolution，ME）（Rzhetsky & Nei，1994）、最大简约法（Maximum Parsimony，MP）（Fitch，1977）构建进化树，赤麂和绵羊汇入一支的置信度分别为 57% 和 49%，依然低于置信度的阈值，因此本文偶蹄目反刍亚目的奶牛、绵羊及赤麂的进化关系的结果依然需要谨慎对待。其可能的原因是进化树的构建受很多因素的影响，例如所选择的分子标记、物种、分析软件以及计算方法等，而这些因子的选择目前又没有一个权威的标准。

由于分子钟本身存在较大的误差（William et al，1995），因此运用偶蹄目动物线粒体 rRNA 和相邻的 tRNA 基因每一百万年进化 0.14%（Kraus & Miyamoto，1991）这个假设计算分歧时间，进而推算出的赤麂分别与绵羊、奶牛及奶牛和绵羊的分歧时间仅仅是估算值，还需结合考古学等数据综合分析后才能得出结论。

致谢：衷心感谢中国科学院北京基因组研究所杨焕明教授和东南大学医学院遗传中心的各位同仁给予的帮助和支持！

参考文献：

Anderson S, de Bruijn MH, Coulson AR, Eperon IC, Sanger F, Young IG. 1982. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA: Conserved features of the mammalian mitochondrial genome [J]. *J. Mol. Biol.*, **156** (4): 683-717.

Arnason U, Gullberg A, Widegren B. 1991. The complete nucleotide sequence of the mitochondrial DNA of the fin whale, *Balaenoptera physalus* [J]. *J. Mol. Evol.*, **33** (6): 556-568.
Elmerot C, Arnason U, Gojobori T. 2002. The mitochondrial genome of pufferish, *Fugu rubripes*, and ordinal teleostean relationships [J]. *Gene*, **295**: 163-172.
Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap [J]. *Evol.*, **39**: 783-791.
Fitch WM. 1977. On the problem of discovering the most parsimonious tree [J]. *Am. Mat.*, **11**: 223-257.
Gatesy JC, Hayashi C, Cronin AM, Arctander P. 1996. Evidence from milk casein genes that cetaceans are close relatives of hippopotamid artiodactyls [J]. *Mol. Biol. Evol.*, **3**: 954-963.
Hiendleder S, Lewalski H, Wassmuth R, Janke A. 1998. The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (*Ovis aries*) and comparison with the other major ovine haplotype [J]. *J. Mol. Evol.*, **47** (4): 441-448.
Hauswirth WW, Laipis PJ. 1982. Mitochondrial DNA polymorphism in a maternal lineage of Holstein cows [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **79** (15): 4686-4690.
Kim KS, Lee SE, Jeong HW. 1998. The complete nucleotide sequence of the domestic dog (*Canis familiaris*) mitochondrial genome [J]. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **10** (2): 210-220.
Kimball RT, Braun EL, Zwartjes PW, Crowe TM, Ligon JD. 1999. A molecular phylogeny of the pheasants and partridges suggests that these lineages are not monophyletic [J]. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **11** (1): 38-54.
Kraus F, Miyamoto MM. 1991. Rapid cladogenesis among the pecoran ruminants: Evidence from mitochondrial DNA sequences [J]. *Syst. Zool.*, **40**: 117-130.
Kumar S, Tamura K, Jakobsen IB. 2001. MEGA2.0: Molecular evolutionary genetics analysis software [J]. *Bioinformatics*, **17** (12): 1244-1245.
Lin CS, Sun YL, Liu CY, Yang PC, Chang CL, Cheng IC, Mao SJT, Huang MC. 1999. Complete nucleotide sequence of pig (*Sus scrofa*) mitochondrial genome and dating evolutionary divergence within Artiodactyla [J]. *Gene*, **236**: 107-114.
Ma K, Shi LM. 1988. Comparative studies on synaptonemal complexes in matocytes of Chinese munjac *Muntiacus reevesi*, Black muntjac *M. crinifrons* and Indian muntajc *M. muntjak* [J]. *Acta Genetica Sinica.*, **15** (4): 282-289. [马 昆，施立明. 1988. 小麂/黑麂/赤麂精母细胞联会复合体的比较研究. 遗传学报，**15** (4): 282-289.]
Ma SL, Wang YX, Oroves CP. 1988. Taxonomic notes on the subspecies of the Indian muntjac (*Muntiacus muntjak*) in Yunnan, China [J]. *Acta Theriologica Sinica*, **8** (2): 95-104. [马世来，王应祥，Oroves CP. 1988. 云南赤麂的亚种分类记述. 兽类学报，**8** (2): 95-104.]
Madsen O, Scally M, Douady CJ, Kao DJ, Debry RW, Adkins R, Amrine HM, Stranhope M, de Jong WW, Springer MS. 2001. Parallel adaptive radiations in two major clades of placental mammals [J]. *Nature*, **409**: 610-614.
Meng J. 2002. Phylogeny and evolution of mammals [J]. *Bulletin of Science and Technology*, **47** (8): 561-568. [孟 津. 2002. 哺乳动物系统发育与演化. 科学通报，**47** (8): 561-568.]
Murphy W J, Eizirik E, Johnson WJ, Zhang YP, Ryder OA, O'Brien SJ. 2001a. Molecular phylogenetics and the origins of placental mammals [J]. *Nature*, **409**: 614-618.
Murphy WJ, Eizirik E, O'Brien SJ, Madsen O, Scally M, Douady C, Teeling EC, Ryder OA, Stanhope M, de Jong WW, Springer MS. 2001b. Resolution of the early placental mammal radiation using Bayesian phylogenetics [J]. *Science*, **294**: 2348-2351.
Niu YD, Li M, Wei FW. 2001. Reliability of mtDNA as molecular marker and its perspective [J]. *Hereditas*, **23** (6): 593-598. [牛屹东，李 明，魏辅文. 2001. 线粒体DNA用作分子标记的可靠性和研究前景. 遗传，**23** (6): 593-598.]
Rzhetsky A, Nei M. 1994. METREE: A program package for inferring and testing minimum-evolution trees [J]. *Comput. Appl. Biosci.*, **10** (4): 409-412.
Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining methord: A new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. *Mol. Biol. Evol.*, **4**: 406-425.
Shi LM. 1976. The karyotype of *M. m. vaginalis* [J]. *Acta Zool. Sin.*, **22** (1): 116. [施立明. 1976. 赤麂的核型. 动物学报，**22** (1): 116.]
Stoneking M, Soodyall H. 1996. Human evolution and the mitochondrial genome [J]. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **6** (6): 731-736.
Su ZH, Tominaga O, Ohama T, Kajiwara E, Ishikawa R, Okada TS, Nakamura K, Osawa S. 1996. Parallel evolution in radiation of O-homopterus ground beetles inferred from mitochondrial ND5 gene sequences [J]. *J. Mol. Evol.*, **43** (6): 662-671.
Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acid. Res.*, **25**: 4876-4882.
Ursing BM, Arnason U. 1998. Analyses of mitochondrial genomes strongly support a hippopotamus-whale clade [J]. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **265** (1412): 2251-2255.
Ursing BM, Slack KE, Arnason U. 2000. Subordinal artiodactyl relationships in the light of phylogenetic analysis of 12 mitochondrial protein-coding genes [J]. *Zool. Scr.*, **29**: 83-88.
Vigilan L, Stoneking M, Harpending H, Hawkes K, Wilson AC. 1991. African populations and the evolution of human mitochondrial DNA [J]. *Science*, **253** (5027): 1503-1507.
William J, Ballard O, Kreitman M. 1995. Is mitochondrial DNA a strictly neutral marker [J]. *Tree*, **10** (12): 485-488.
Yamauchi MM, Miya MU, Nishida M. 2002. Complete mitochondrial DNA sequence of the Japanese spiny lobster, *Panulirus japonicus* (Crustacea: Decapoda) [J]. *Gene*, **295**: 89-96.